

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**E.A.P. DE OBSTETRICIA**

**“EFECTO ANTICONCEPTIVO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE PERSEA  
AMERICANA (PALTA) EN RATONES HEMBRAS  
DURANTE EL PERIODO ENERO-MARZO 2014”**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Licenciado En Obstetricia**

**AUTOR**

**Quispe Yucra, José Antonio**

**Suazo Pinedo, Fiorella**

**ASESOR**

**Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo**

**Lima – Perú**

**2014**

## DEDICATORIA

*A Dios por iluminarnos cada día y guiarnos para hacer las cosas bien en el ambito profesional y social. A nuestros padres que con mucho amor y sacrificio nos apoyaron incondicionalmente durante nuestra formación profesional.*

## **AGRADECIMIENTO**

*A nuestro asesor el Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, por su apoyo y por su excelente asesoramiento muchas gracias.*

## INDICE

Resumen .....	5
Abstract .....	6
I. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 DEFINICION DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	14
II. OBJETIVOS .....	15
III. HIPOTESIS .....	16
IV. MÉTODOS.....	17
V. RESULTADOS .....	23
VI. DISCUSIÓN .....	32
VII. CONCLUSIONES .....	36
VIII. RECOMENDACIONES .....	37
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38
X. ANEXOS.....	42

## Resumen

**Objetivo:** Determinar si la administración por vía oral del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en ratones hembras tiene efecto anticonceptivo. **Diseño:** Estudio experimental. **Lugar:** Bioterio de la Facultad de Medicina y Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Material biológico:** Ratones cepa BALB/c-53. **Intervenciones:** Cuarenta ratones hembras fueron divididos aleatoriamente en 4 grandes grupos, de 10 cada uno. El primero fue control, con Solucion de Goma de Tragacanto (GT) 1% 10mL/kg y los grupos restantes con extracto vía oral a dosis de 25mg/kg, 50mg/kg y 100mg/kg, durante 16 días. Cada grupo consideró 10 hembras y 2 machos juntos, que fueron divididos en 2 sub-grupos de 5 hembras y 1 macho por cada jaula. Al día 17 las ratones hembras fueron sacrificadas, para observar la presencia de fetos en el útero. Así mismo se realizó el estudio fotoquímico y la cromatografía del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana*; y la dosis letal media. **Principales medidas de resultados:** El efecto anticonceptivo se evaluó mediante la cuantificación del indicador macroscópico preñez. **Análisis estadístico:** El análisis estadístico fue realizado empleando el software SPSS versión 20.0 y Excel office 2010. Se realizaron análisis descriptivos y pruebas estadísticas de significancia. **Resultados:** Los saponinas y alcaloides estuvieron en mayor cantidad en el extracto etanólico, pero también hubo presencia de flavonoides y taninos. Se mostró un efecto anticonceptivo con porcentajes de 30%, 20% y 0% a dosis de 25, 50 y 100mg/Kg de peso, respectivamente. Los controles mostraron un 10% de ausencia de preñez. Cabe señalar que el 100% de las ratones hembras que recibieron el extracto etanólico de la planta a máxima dosis resultó grávida y que la evolución de la gestación estuvo altamente avanzada en comparación del grupo control. **Conclusiones:** En condiciones experimentales, el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* (palta) mostró a menor dosis un pobre efecto anticonceptivo que no fue estadísticamente significativo y a mayor dosis un incremento de la fertilidad en ratones hembras normales debido a las características observadas.

**Palabras claves:** Anticonceptivo, *Persea americana*, Plantas Anticonceptivas.

## CONTRACEPTION EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF *Persea americana* SEED (AVOCADO) IN FEMALE MICE DURING JANUARY-MARCH 2014

### Abstract

**Objective:** To determine whether oral administration of ethanolic seed extract of *Persea americana* (avocado) in female mice has contraceptive effect.

**Design:** Experimental study. **Location:** Bioterio's Faculty of Medicine and Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Biological material:** Mice BALB/c-53 strain. **Interventions:** Forty female mice were randomly divided into 4 main groups of 10 each. The first control group received Gum Tragacanth (GT) Solution 1% 10mL/kg and the others groups received orally extract at doses of 25mg/kg, 5mg/kg and 100mg/kg, for 16 days. Each group considered 10 females and 2 males together; they were divided into 2 sub - groups of 5 females and 1 male per cage. At day 17 the female mice were sacrificed, to observe the presence of fetuses in the uterus. Also the study photochemical and chromatography of the ethanol extract of *Persea americana* seed was performed. **Main outcome**

**measures:** The contraceptive effect was assessed by quantifying the macroscopic indicator pregnancy. **Statistical analysis:** Statistical analysis was performed using the SPSS software version 20.0 and Excel office 2010. Descriptive analyzes and statistical tests of significance were performed.

**Results:** The saponins and alkaloids were in greater amounts in the ethanol extract, but flavonoids and tannins were presents too. Contraceptive effect with percentage of 30%, 20 % and 0 % at doses of 25, 50 and 100mg/kg per corporal weight, respectively showed. Controls showed 10% of absence of pregnancy. It should be noted that 100% of the female mice receiving the ethanolic extract of the plant to maximum dose was pregnant and the course of pregnancy was highly advanced compared the control group. **Conclusions:** In experimental conditions, the ethanol extract of seed of *Persea americana* (avocado) showed a poor contraceptive effect with the lowest dose that was not statistically significant; and increase fertility in normal female mice with highest doses due to observed characteristics.

**Keywords:** Contraceptive, *Persea americana*, Contraceptive plants.

## I. INTRODUCCIÓN

La tendencia de crecimiento de la población peruana si bien ha disminuido con los años aún está en un nivel elevado y el control que haya de este dependerá en gran parte del control de natalidad del cual el sistema de planificación familiar forma parte. A partir de la flora medicinal nativa nos encontramos con una alternativa de control de natalidad y que es importante sobretudo en las regiones rurales de nuestro país en donde la medicina tradicional se sigue practicando<sup>1,2</sup>.

En la actualidad se hace necesaria la anticoncepción como forma de controlar la natalidad, planificar el número de hijos y sobre todo evitar aquellos riesgos para la salud propios de todo procedimiento abortivo a los que un embarazo no deseado podría conllevar en muchos casos. Según los resultados comparativos de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (Endes) 2000 la tasa global de fecundidad (TGF) era 2.9 y de la Endes 2010-2013 fue de 2.4; si bien ha disminuido ésta se sigue manteniendo aún elevada, ya que la TGF deseada es de 1.8, siendo reflejo de esta diferencia los embarazos no deseados en la población. En nuestro país sólo el 50.5% de las mujeres que viven en unión usan métodos modernos de planificación familiar y el 23,9% usa métodos tradicionales<sup>3</sup>. En algunos países de américa latina, el uso de métodos modernos es mayor al 70%<sup>4</sup>. Dentro de los factores que impiden que se logre la situación ideal esta principalmente la deserción por causa de los efectos secundarios a los métodos anticonceptivos lo cual también implica que no se está dando una adecuada consejería, otro punto importante es la cobertura de métodos de planificación familiar modernos así como los mitos y creencias que tienen ciertas poblaciones sobretudo las rurales<sup>3</sup>.

Los contraceptivos modernos que actualmente existen se han desarrollado a partir de los principios activos de numerosas plantas que históricamente han sido utilizadas para reducir la fecundidad en diferentes culturas ancestrales, así también aún muchas plantas utilizadas para estos fines se siguen estudiando<sup>5,6</sup>. Dentro de estas se encuentra la semilla de *Persea americana*

que en el mercado conocemos como palta y que es utilizado en la amazonia y otras regiones del país en el control de la natalidad.

Si bien se conoce y menciona su uso en muchas tribus sobretodo amazónicas, en nuestro medio se cuenta con un único estudio serio que brinda información científica de dicha propiedad anticonceptiva y el alcance de sus efectos<sup>7,8,9,10</sup>. Teran et al., evaluaron el efecto anticonceptivo de la semilla de *Persea americana* por medio de un extracto acuoso y evidenciaron un efecto parcial de este efecto.

Siendo la semilla de *Persea americana* utilizada como un método anticonceptivo tradicional en algunas zonas rurales del Perú<sup>1</sup>, en donde la escasa cobertura, los mitos y creencias son factores limitantes del uso de métodos anticonceptivos modernos, es importante determinar si su uso está justificado y otorga alguna protección anticonceptiva real. Por ello se consideró necesario realizar esta investigación para determinar si ¿Con la administración oral del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* se tendrá efecto anticonceptivo en ratones hembras de cepa BALB/c-53 en el Bioterio de la UNMSM durante el periodo enero - marzo 2014?.

La *Persea americana* pertenece a la familia de las Lauráceas, que está formada por 52 géneros y cerca de 3.500 especies; esta es una de las familias más primitivas de las dicotiledóneas<sup>13</sup>. La taxonomía de la *Persea americana* es la siguiente:

- Reino: Vegetal
- División : Spermatophyta
- Subdivisión: Angiospermae
- Clase: Dicotyledoneae
- Subclase: Dipétala
- Orden: Ranales
- Familia: Lauraceae
- Género: *Persea*
- Especie: *Persea americana* Miller o Mill



El fruto de la palta (*Persea americana*) es una baya con mesocarpio y endocarpio carnosos que contiene una sola semilla. Dicha semilla de la *Persea americana* representa entre el 12 – 28% del peso de la fruta, dependiendo de la variedad la composición química, capacidad antioxidante<sup>13, 14</sup>.

Este fruto es cultivado en diversas parte de nuestro país, entre ellos tenemos: Amazonas, Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto, San Martín, Ucayali; donde en muchos de estos departamentos (Amazonas, Loreto, San Martín, Junín) la semilla de este fruto es usado como método anticonceptivo para regular la tasa de fecundidad de cada familia<sup>15, 16</sup>.

Mejia et al.<sup>1</sup>, refieren el uso tradicional de la semilla de *Persea americana* como anticonceptivo en caserios cercanos a Iquitos y otras regiones amazónicas (San Martín, Ucayali, entre otros). Tapuy et al.<sup>6</sup>, centraron su atención al estudio de la etnomedicina del poblado de Canton Araujo-Ecuador en donde identificaron varias plantas, donde reportaron algunas con propiedades anticonceptivas, mencionando a la *Persea americana* como una de ellas. Por otro lado en México, Benítez refiere la utilización de la *Persea americana* como anticonceptivo en zonas rurales de este país. Barford et al.<sup>9</sup>, también menciona la utilización de esta planta como anticonceptivo por indígenas en el noroeste de Ecuador.

La forma de uso varía en algunos casos; Mejia et al., en su compilado de Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonia Peruana indican la forma de uso de la semilla como anticonceptivo: secar la semilla y molerla; el polvo obtenido se mezcla con los alimentos<sup>1</sup>. Otra literatura nos indica que se debe tomar la decocción de las semillas durante la menstruación. Tapuy et al., indican que en Cantón Aráujo – Ecuador la forma de uso de la semilla es primero rallándola, sacarle el zumo y mezclarlo en un vaso de agua, tomar dos cucharadas al día (cucharas soperas) hasta que el vaso agote, repitiéndolo todos los meses<sup>6</sup>.

Pero no es la única propiedad a la que se le asocia, entre otros usos tenemos: quemaduras, descensos (flujo blanco), disenteria, antidiarreico, mordedura de serpiente<sup>2,6</sup>.

Los componentes activos identificados en la mayoría de las plantas de la especie de *Persea americana* son similares salvo ciertas variaciones en la proporción de compuestos específicos que se pueden aislar, es por ello que las propiedades farmacológicas de los extractos de diversas especies de plantas de este género se caracterizan por una similitud muy significativa<sup>17</sup>.

En la literatura las variedades de *Persea americana* Hass y fuerte son las más estudiadas tanto para la evaluación de sus beneficios como de su composición química, así también son de las variedades que se tiene alguna referencia de uso folklórico como contraceptivo en nuestro país<sup>15</sup>.

Con respecto a los principios responsables de la propiedad contraceptiva que estan presentes en algunas plantas como la *Persea americana*, se han aislado e identificado mediante estudios in vitro y experimentos en animales diversos agentes tales como flavonoides, flavonas, flavones glicósidos<sup>18, 19, 20, 21</sup> esteroides y taninos<sup>22</sup> como los principales responsables de la capacidad contraceptiva de dichas plantas e identificando sus principales formas de administración para lograr el efecto deseado.

Las técnicas usadas para la extracción de los ingredientes bioactivos de estas hierbas son anotados por usar etanol o metanol, para así causar algunos de los efectos anticonceptivos, y entre los principios activos responsables de la actividad contraceptiva se tienen a los compuestos esteroides con actividad estrógena o antiestrógena que incluyen flavonas, isoflavonas como la 11 genisteína y derivados de coumestano<sup>14, 21,23</sup>.

Los flavonoides: isoflavonas, cumarinas son sustancias conocidas como fitoestrógenos no esteroidales, estos producen infertilidad en animales. Una remarcable diversidad de compuestos naturales y sintéticos ha mostrado mimetizar los efectos biológicos del 17-beta estradiol por virtud de su

capacidad de unirse y activar el receptor nuclear de estrógenos<sup>24</sup>. Con respecto a los flavonoides, dos flavonas apigenina y luteína aislados del *Striga orobanchioides*, fueron investigadas por sus propiedades endocrinas y anticonceptivas, y en dosis graduales de estos componentes 5-25mg/kg de peso corporal/día, cuando se administraron a partir del día 1 al día 4 del embarazo, produjeron un efecto dosis dependiente y tuvieron significativa actividad contra la implantación, causando la administración oral de estos compuestos un aumento significativo en el peso uterino de las ratones hembras inmaduras ovariectomizadas, y también se produjo el aumento en el espesor del endometrio en comparación a las ratas hembras control, lo cual indicó su actividad anticonceptiva<sup>25</sup>.

Sharangouda determinó también, que la presencia de flavonoides serían los responsables de la actividad farmacológica contraceptiva. Siendo corroborado este hallazgo en el extracto de éter de petróleo de las semillas del *Citrus medica* “limón” debido a la presencia de los flavonoides, los cuales tienen al efecto estrogénico como mecanismo responsable de su actividad<sup>20</sup>.

Se ha reportado que las saponinas pueden ser precursoras de hormonas gestágenos, como por ejemplo la progesterona. Como se sabe, la progesterona es responsable de la nidación (implantación) y del mantenimiento de la gestación, y a dosis altas de progesterona inhibe la descarga de GnRH, en consecuencia, la secreción de gonadotropinas por la adenohipofisis. Este efecto puede ser el regulador de la duración del diestro que evita el desarrollo de folículos, bloqueando la ovulación<sup>25, 26</sup>. Los flavonoides y taninos producen efectos antiimplantatorios en los animales<sup>25</sup>.

Es importante mencionar cual es el mecanismo de acción de los anticonceptivos hormonales que se tienen disponibles en el mercado, estos tienen como acción principal la inhibición de la ovulación, y se logra por diferentes vías, los estrógenos pueden inhibir directamente la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH); los estrógenos hacen que la hipófisis responda menos a la GnRH; y los progestágenos pueden impedir el pico de LH a mitad del ciclo. También la efectividad anticonceptiva de estos compuestos se logra

por la modificación de la viscosidad y la composición del moco cervical que inhibe el transporte de espermatozoides, este efecto es producido por los progestágenos, pues los estrógenos tienen el efecto contrario; hay inhibición de la maduración endometrial que previene la implantación, también está la alteración de la fisiología tubaria y, además, interferencia de la capacitación espermática e interferencia de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo<sup>23</sup>.

Además en un análisis fotoquímico de la semilla de palta, estableció que la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) en trabajos realizados en ratones, tuvo un valor mayor a 2000 mg/kg, lo que corresponde a una clasificación como producto ligeramente tóxico. También en este estudio con ratones se observó que hay una disminución del 55% de movilidad espermática, por lo que se concluye que se podría utilizar la semilla de aguacate como un anticonceptivo natural para varones a corto plazo<sup>26, 47</sup>.

En experimentos de larga duración no se ha encontrado diferencias con respecto al momento de la apertura vaginal en ratones (una de las características reproductivas importantes de referencia), situándolo entre el día 37 y 39 de vida, pero sin embargo, se ha encontrado diferencias individuales dentro de la misma cepa, atribuyendo dichas variaciones estacionales a la composición del alimento y a otros factores desconocidos<sup>27</sup>. En vista de los datos encontrados en la literatura, en esta investigación se tomó como sujetos de experimentación a las ratones hembras de cepa BALB/c-53. Y es importante conocer su ciclo estral que es definido como el tiempo que transcurre entre un periodo de celo y el comienzo del siguiente siendo su duración de 4 a 5 días<sup>28</sup>. El ratón de laboratorio es un mamífero no estacional de ovulación espontánea y poliestrica<sup>29, 30, 31</sup>. Este ciclo esta compuesto por 4 fases: **diestro**, tiene una duración aproximada de 57 horas (dos días y medio) y en esta fase ocurre la caída de los niveles de estrógenos que desbloquean la secreción de LH y FSH, que comienzan a aumentar, iniciando el desarrollo de un nuevo grupo de folículos<sup>32, 33</sup>; **proestro**, dura aproximadamente 12 horas y ocurre el crecimiento aproximado de 12 folículos ováricos debido a la influencia de la FSH; **estro**, dura aproximadamente 20-25 horas y en esta fase la secreción de

estrógenos alcanza su nivel máximo inhibiendo la liberación de FSH y aumentando la de LH (hormona luteinizante), lo cual produce la ovulación; y por ultimo el **metaestro**, con una duración aproximada de 10 horas y es en esta fase donde se forma en el ovario el cuerpo lúteo, responsable de la secreción de elevados niveles de progesterona<sup>34, 35, 36</sup>.

Ocurrida la fertilización del oocito por el espermatozoide se inicia el periodo embrionario. La fertilización ocurre en la parte superior del oviducto (ámpula), durante este periodo, y paralelamente al desarrollo del embrión, el útero se prepara para recibir una posible gestación. Para ello, se producen cambios en el epitelio que favorecen la implantación del blastocisto; que ocurre entre el día 4,5 a 6 pc<sup>32</sup>. Los estadios por los que pasa han sido minuciosamente estudiados por Theiler (1989), observando que pueden existir cambios morfológicos del embrión/feto en el transcurso de pocas horas<sup>32, 37</sup>.

La gestación dura entre 18,5 y 19,5 días en las hembras primíparas, y entre 19 y 21 en las múltiparas<sup>38</sup>.

La semilla de *Persea americana* contiene saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides<sup>11</sup>; habiéndose demostrado efecto antifertilizante con estos metabolitos secundarios en otras plantas consideradas anticonceptivas estudiadas científicamente<sup>7,12</sup>. Esta investigación contribuirá con dar más información científica sobre su efecto anticonceptivo; su composición química será fundamental para conocer que componentes principales le otorgan ese mecanismo y así más adelante sirva como base para investigaciones futuras y elaboración de otros métodos anticonceptivos.

## 1.1 DEFINICION DE TÉRMINOS BÁSICOS

- ❖ ***Persea americana***: también llamado aguacate pertenece a la familia de las Lauráceas. Su fruto verde y comestible se conoce como aguacate, palta, cura, avocado, oabacate, según las regiones<sup>13</sup>.
- ❖ ***Anticoncepción***: Agente que tiene actividad anticonceptiva de naturaleza farmacológica, principalmente con acciones de carácter hormonal o antihormonal que llegan a modificar de manera sustancial los mecanismos de ovulación, fecundación o implantación del huevo fecundado<sup>18</sup>.
- ❖ ***Ciclo estral***: Se define como, el período de tiempo que va desde el inicio del celo o estro hasta el inicio del siguiente. Se da en los mamíferos exceptuando en los primates donde recibe el nombre de ciclo menstrual. En la ratona dura de 4 a 5 días<sup>29</sup>.
- ❖ ***Medicina Tradicional o Folklorica***: Es el conjunto de conocimiento y prácticas que tiene como fundamento el saber médico ancestral de la población modificado a lo largo del tiempo. Es una práctica que se transmite por la tradición familiar o comunitaria, que tienen sus propios agentes de salud y sus ideas específicas sobre la enfermedad y curación<sup>39</sup>.
- ❖ ***Extracto etanólico de semilla de Persea americana***: Es el residuo seco obtenido al coleccionar las semillas de *Persea americana*, molido y macerado en etanol 96° por 7 días, luego filtrado, y evaporado el solvente<sup>40, 41</sup>.

## **II. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar si la administración por vía oral del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en ratones hembras tiene efecto anticonceptivo.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar la frecuencia de úteros no grávidos en ratones tanto de grupo control como experimental.
- Identificar los principales metabolitos secundarios del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* mediante estudio fitoquímico.

### **III. HIPOTESIS**

#### **3.1 Hipótesis general**

La administración vía oral del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* tiene efecto anticonceptivo en ratones hembras de cepa BALB/c-53 en el Bioterio de la UNMSM durante el periodo enero - marzo 2014.

#### **3.2 Identificación de variables**

**Variable independiente:**

Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana*.

**Variable dependiente:**

Anticoncepción



## **IV.MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de Investigación**

Experimental.

### **4.2 Diseño de la investigación**

Investigación experimental de tipo experimental puro.

### **4.3 Descripción del Área de estudio**

Este estudio fue realizado en las instalaciones del Bioterio de Farmacología ubicadas en la sede Facultad de Medicina “San Fernando” -Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Lima-Perú desde enero a marzo del 2014.

### **4.4 Población y Muestra**

#### **4.4.1 Población**

La población del presente trabajo de investigación estuvo conformada por ratones de cepa BALB/c-53.

#### **4.4.2 Muestra**

Fueron 48 ratones (40 hembras y 8 machos) de cepa BALB/c-53 del Instituto Nacional de Salud del Perú; los cuales fueron divididos en 4 grupos de 10 ratones hembras por cada uno.

#### **A. CRITERIOS DE INCLUSION**

- Cepa BALB/c-53
- Ratones en edad fértil (90 días a 12 meses).
- Peso entre los  $32\pm 6$ gr.

## B. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Ratones hembras preñadas.
- Ratones enfermos.
- Ratones manipulados previamente.

### 4.4.3 Diseño experimental

GRUPO	TRATAMIENTO	N°	OBSERVACIÓN (frecuencia)			
			Preñez		No preñez	
			N°	%	N°	%
1	Solución de Goma Tragacanto 1% (GT) 10mL/kg	10				
2	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 25mg/kg	10				
3	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 50mg/kg	10				
4	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 100mg/kg	10				

## **4.5 Procedimientos:**

### **4.5.1 Recolección y preparación del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta)**

La *Persea americana* fue recolectada en la región San Martín, en la zona noroeste del Perú, aproximadamente a 370 metros de altura durante el mes de enero. Posteriormente la planta fue identificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Para la preparación del extracto alcohólico o etanólico, las semillas (“pepas”) de la *Persea americana* previamente cortadas en rodajas delgadas fueron sometidas a deshidratación a 23°C, por 4 días; luego fueron molidas en un molino eléctrico hasta obtener un polvo fino, macerándose con alcohol de 96° por 7 días. Luego de estos 7 días, se filtró y se llevó a estufa, a 23°C, en placas grandes, para evaporización del solvente, por 3 días para obtener el residuo seco.

Luego se resuspendió el extracto seco en una solución de Goma Tragacanto al 1%, para obtener una suspensión homogénea conteniendo 10mg de extracto por mL (10 mg/mL).

### **4.5.2 Manejo de los animales de experimentación**

Los animales durante la investigación fueron manejados siguiendo las normas de la Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio del INS.

Se emplearon 40 ratones hembras y 8 ratones machos de la cepa BALB/c-53 en edad reproductiva. Las ratones hembras tuvieron un peso promedio 32±6 gr. Estos animales fueron obtenidos del Instituto Nacional de Salud del Ministerio de Salud.

La parte experimental fue realizada en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNMSM durante los meses de enero -marzo del 2014. En

dicho lugar se mantuvo el ambiente a temperatura de 20-25°C, ciclo de luz (12 horas claro, 12 oscuro) con dieta y agua a libertad. Los animales fueron pesados y luego separados en grupos de hembras y machos y se les aclimató en el bioterio por un periodo de 2 semanas previo a la realización de la experimentación.

#### **4.5.3 Screening Fitoquímico**

Se utilizó la detección preliminar para los diferentes constituyentes químicos de la planta en extracto seco, se realizó reacciones de identificación o coloración para determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios haciendo uso de reactivos específicos realizándose ensayos para detectar alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, esteroides y saponinas basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación.

#### **4.5.4 Dosis letal media (DL<sub>50</sub>)**

Los ratones hembras se distribuyeron aleatoriamente en grupos de 5 animales cada uno, teniendo en total 4 grupos. Posteriormente se les administró el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* por vía intragástrica empleando una cánula, en dosis de 100 mg/Kg, 500 mg/Kg, 1000mg/Kg de peso y un grupo de solución de Goma Tragacanto. Los animales se mantuvieron en observación durante 14 días, se contabilizaron el número de animales muertos y constantemente se observó la sintomatología que presentaron. Al término de ese periodo y siguiendo los procedimientos indicados en las normas OECD N°401 se determinó la dosis letal media (DL<sub>50</sub>).

Se ha observado que todos los animales en dosis de 1000mg/kg murieron dentro de las 48 horas; en el mismo periodo de tiempo los ratones hembras que recibieron 500mg/kg fallecieron en un 60%; en tanto, que con dosis de 100mg/kg ninguno murió. Por ello la dosis letal 50 estaría sobre los 500mg/kg de peso corporal; al haberse observado ataxia, pérdida de tonicidad muscular y posterior muerte -posiblemente por un

paro cardiorespiratorio- que ocurrió en más del 50% de los ratones que recibieron esta dosis; y esto sirvió de antecedente para determinar las dosis experimentales de 25, 50 y 100 mg/kg de peso corporal, utilizadas en la presente investigación.

Teran et al., no reportan toxicidad alguna en las ratas que recibieron máxima dosis (1000mg/kg) más si presencia de teratogénesis por lo que se discute la elaboración y preparación del extracto acuoso del estudio<sup>7</sup>. Otro estudio que evalúa la hepatotoxicidad y nefrotoxicidad del extracto acuoso de semilla de *Persea americana* demostró que es posible encontrar alguna lesión tanto en el riñón y en el hígado a máxima dosis<sup>26</sup>.

#### **4.5.5 Procedimiento para el estudio del efecto anticonceptivo del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana***

Se dispuso un grupo 1 control (Solución de Goma Tragacanto 1% 10mL/kg), y 3 grupos experimentales (extracto etanólico de semilla de *Persea americana* en GT a dosis: grupo 2→ 25mg/kg, grupo 3→50mg/kg, grupo 4→100mg/kg).

Las ratones hembras fueron distribuidas de la siguiente manera: en una jaula 5 ratones hembras; y se diferenciaron por el color de la punta de cola (azul, verde, rojo, negro 1 raya y negro 2 rayas), se contaron de esta manera con 8 jaulas en total (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B), correspondió 2 jaulas para cada grupo. Se sorteó las 4 sustancias entre los 4 grupos de jaulas y se registró según los códigos asignados en una hoja de registro asignada (ANEXO 1), la cual permitió administrar las sustancias según correspondían. Se inició de esta manera la administración de las sustancias, por medio de cánula intragástrica; al cuarto día de administración recién se incorporó un ratón macho a cada jaula. Se continuó con la administración por 12 días más; y al día 9 se retiró a todos los machos de las jaulas.

Al día 17 las 40 ratones hembras fueron anestesiadas con fenobarbital a dosis de 100mg/Kg y laparatomizadas para el registro del indicador macroscópico preñez (presencia o no de embriones o fetos implantados) y así se determinó la concepción o anticoncepción esperada en los ratones tratados con extracto etanólico de la semilla de la *Persea americana* (palta).

#### **4.6 Técnicas e instrumentos de recolección**

Para el registro de datos, se preparó la ficha de recolección de datos, cuyo modelo figura en el presente trabajo en la sección de ANEXOS.

#### **4.7 Plan de análisis e interpretación de datos**

Se utilizó el programa Excel del paquete Office 2010 Windows para la realización de la interpretación descriptiva de los datos y el desarrollo de los respectivos gráficos. El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa de software SPSS versión 20.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Taxonomía de *Persea americana*

La clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Constancia N°28-USM-2014). La muestra vegetal (planta completa) fue estudiada y clasificada como *Persea americana* Miller y tiene la siguiente posición taxonómica, según el sistema de Clasificación de Cronquist: (Ver ANEXOS 4)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Magnoliidae

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea*

Especie: *Persea americana* Miller

Variedad: Fuerte

Nombre vulgar: Palta

### 5.2 Estudio fitoquímico

#### 5.2.1 Características de extracto

Se obtuvo un extracto etanólico con aspecto de masa homogénea, de consistencia sólida, color naranja, libre de partículas extrañas, el rendimiento fue el 2% de las semillas enteras. Conservándose en frasco ámbar en el compartimiento del refrigerador a 5°C. Para la administración a los animales se procedió a resuspender el extracto en forma homogénea en Goma Tragacanto al 1%.

### 5.2.2 Screening fitoquímico y cromatografía

El estudio fitoquímico en determinaciones cualitativas efectuadas demostró que las saponinas y alcaloides estuvieron en mayor cantidad en la fracción. Los flavonoides y taninos también estuvieron presentes y la prueba cromatográfica corroboró estos hallazgos, demostrando su presencia pero no en cantidades abundantes (ver Tabla 1 y Figura 1).

**Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* (palta)**

Reacción de:	Metabolitos	Extracto
Molish	Carbohidratos	++
Antrona	Carbohidratos	++
FeCl <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos	++
Gelatina	Taninos	++
Shinoda	Flavonoides	++
Liebermann	Triterpenoides y esteroides	-
Bortranger	Naftoquinonas, antronas y antranonas	-
Dragendorff	Alcaloides	+++
Mayer	Alcaloides	+++
Rosenheim	Antocianinas	-
Hidroxilamina	Carbonilo	++
Índice afrosimétrico	Saponinas	+++
<b>Leyenda:</b> (+++) abundante cantidad, (++) regular cantidad o positivo, (-) no detectable		



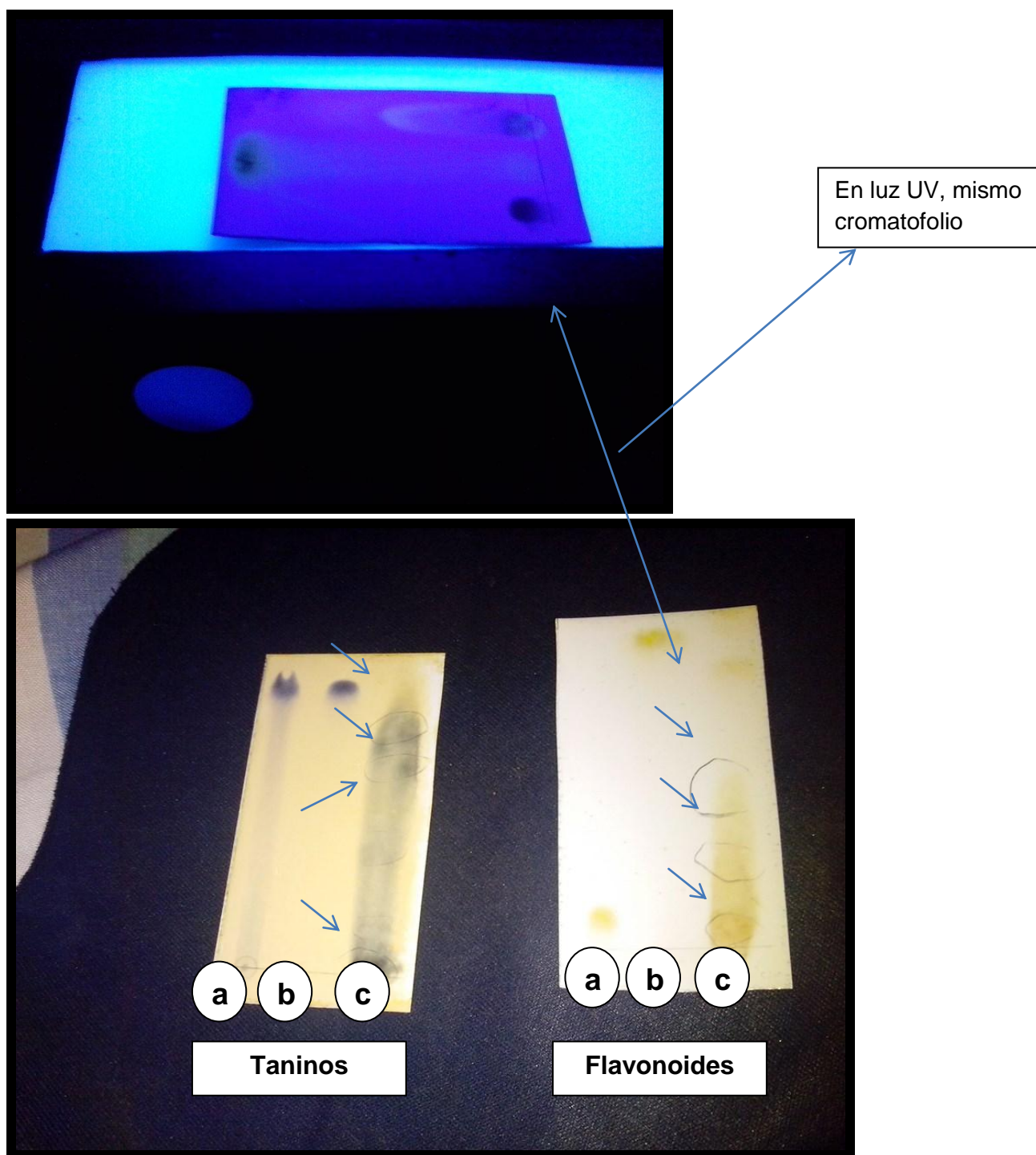
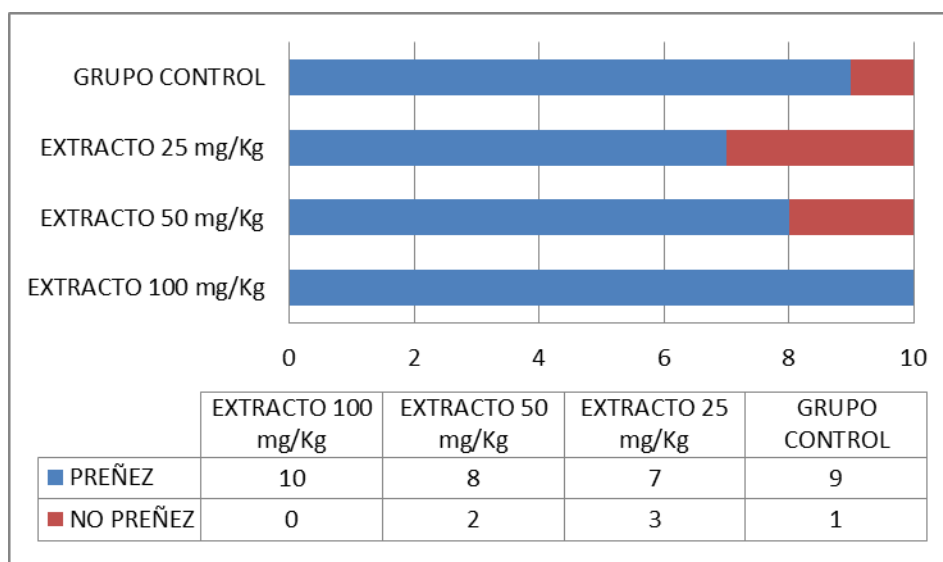


Figura 1: **IMAGEN IZQUIERDA** a) Corrido cromatográfico de estándar de taninos (ácido tánico) b) corrido cromatográfico del estándar de taninos (ácido gálico) c) Muestra problema. **IMAGEN DERECHA** a) Corrido cromatográfico de estándar de flavonoides (rutina) b) Corrido cromatográfico del estándar de flavonoides (quersetina) c) Muestra problema

### 5.3 Efecto del tratamiento anticonceptivo

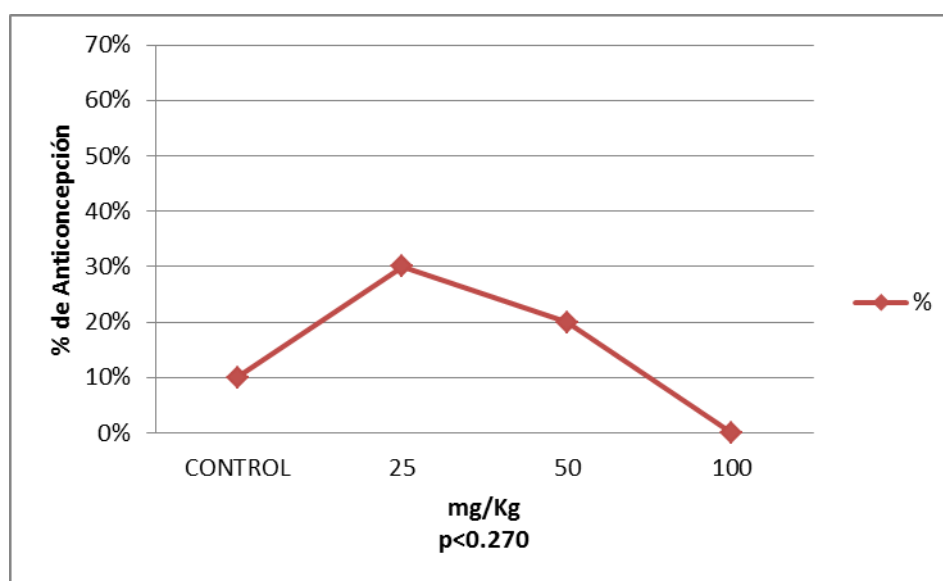
En la Figura 2 y Tabla 2 se observa, de manera descriptiva, la asociación entre el efecto anticonceptivo del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* y el indicador preñez. Así también en la Figura 3 se observa una relación entre el efecto anticonceptivo y el extracto investigado, que fue aumentado según disminuía la dosis, un 30% en el grupo experimental con dosis de 25mg/Kg, un 20% en el grupo de 50mg/Kg. Muy por el contrario el grupo con la máxima dosis obtuvo todos los ratones hembras apareadas.



**Figura 2: Asociación entre Actividad Anticonceptiva y dosis administrada**

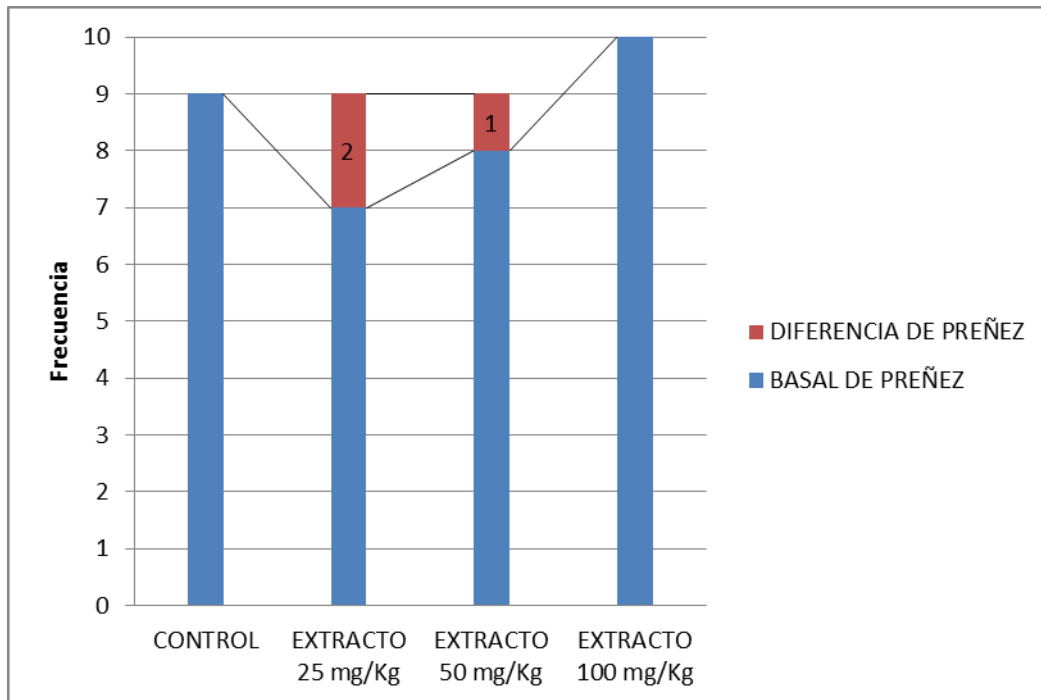
**Tabla 2. Frecuencia y Porcentaje de anticoncepción**

GRUPO	TRATAMIENTO	N°	OBSERVACIÓN (frecuencia)			
			Preñez		No preñez	
			N°	%	N°	%
1	Solución de Goma Tragacanto 1% (GT) 10mL/kg	10	9	90%	1	10%
2	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 25mg/kg	10	7	70%	3	30%
3	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 50mg/kg	10	8	80%	2	20%
4	Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> en Goma Tragacanto 100mg/kg	10	10	100%	0	0%



**Figura 3: Porcentaje de anticoncepción**

En la Figura 4 se observa, de manera descriptiva, la diferencia de la basal preñez del grupo control con respecto a la preñez de los grupos experimentales (extracto de semilla de *Persea americana* dosis: 25mg/kg, 50mg/kg y 100mg/kg); se observa que hay un constante aumento de la preñez según va aumentando la dosis del extracto administrado.



**Figura 4: Diferencia entre basal preñez de grupo control y experimental**

Cabe recalcar que macroscópicamente se puede observar que la evolución de la gestación de las ratones hembras es mayor según se incrementa la dosis de extracto administrado. (Ver FIGURA 5, 6, 7 y 8)



**Figura 5: Grupo control - Solución de GT 1% 10mL/kg  
(grávidas)**



**Figura 6: Grupo experimental – Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 25mg/kg (grávidas)**



**Figura 7: Grupo experimental – Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 50mg/kg (grávidas)**



**Figura 8: Grupo experimental – Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 100mg/kg (grávidas)**

## VI. DISCUSIÓN

La distribución natural de la palta (*Persea americana* Miller) va desde México hasta Perú, es propia de las regiones tropicales y subtropicales<sup>13</sup>. Existen muchas variedades de *Persea americana* Miller, entre las más estudiadas se encuentra la cv. Hass y Fuerte<sup>11, 14, 16</sup>, el estudio se centró en la última mencionada, habiéndose estudiado taxonómicamente dicha variedad (ver ANEXO 4).

Para compuestos insolubles en agua como fue en el caso de esta investigación se puede emplear un disolvente orgánico adecuado. Idealmente, este debe carecer de efectos farmacológicos, ser estable en las condiciones de uso, no tóxico, no irritante y no sensibilizante. Los sólidos insolubles o los productos químicos inmiscibles pueden ser dosificados como suspensiones o emulsiones en agentes tales como goma de tragacanto o metil-celulosa<sup>42</sup>.

En un estudio realizado a la semilla de aguacate o palta determinaron en su análisis fitoquímico que comparando diversos tipos de extractos (etéreo, acuoso y etanólico), el extracto etanólico conservó mayor cantidad de metabolitos secundarios como los taninos y flavonoides<sup>8</sup>. Es por ello que a diferencia del estudio realizado por Teran et al., se optó por la elaboración de un extracto etanólico en esta investigación.

El estudio fitoquímico indica la mayor presencia de saponinas y alcaloides (ver tabla 1). La composición química de la semilla de la *Persea americana* ha sido descrita por diversos autores y en todos ellos los datos informados son muy parecidos. En ellos reportan que la semilla de *Persea americana* presenta una elevada concentración de metabolitos secundarios como saponinas, taninos y fenoles en comparación a los otros metabolitos también presentes como flavonoides y alcaloides<sup>11, 26, 48</sup>.

Estudios anteriores investigaron los beneficios y usos de la semilla de *Persea americana* con el propósito de indagar en el efecto anticonceptivo además de



otros efectos que presenta dicha planta que son reportadas por la medicina tradicional tanto de nuestro país como del extranjero<sup>1, 5, 43</sup>.

En la Figura 2 y 3 se observa en porcentajes que hay una leve diferencia de anticoncepción entre el grupo control y el grupo experimental de dosis 25 y 50mg/kg, siendo estas de 10%, 30% y 20% respectivamente. En el estudio realizado por Teran et al., se usó un modelo para el estudio de la función reproductiva en implantaciones, para evaluar el efecto anticonceptivo, que si bien llega a la conclusión de que es un modelo que se discute que sea adecuado para la evaluación del efecto antes mencionado, llega a tener los siguientes resultados: 11%, 18%, 27%, 37% y 8% con dosis de 1, 10, 100 y 1000mg/kg de peso y grupo control respectivamente<sup>7</sup>.

Se aprecia en la figura 3 una pobre asociación del efecto anticonceptivo respecto a la dosis y esta fue inversamente proporcional a la dosis de 25, 50, 100mg/kg de peso corporal. La diferencia basal entre el grupo control y experimental fue como se aprecia en el figura 4; de 2, 1 y 0, a dosis de 25mg/kg, 50mg/kg y 100mg/kg respectivamente. En el estudio realizado en Bolivia detectaron un evidente aunque parcial efecto anticonceptivo a dosis de 1, 10, 100 y 1000mg/kg de peso corporal, en dicha investigación la relación dosis-respuesta del efecto fue directamente proporcional<sup>7</sup>, muy por el contrario con la experiencia que se obtuvo en esta investigación, como se mencionó inicialmente. En esta investigación se observó que a menor dosis hubo menor cantidad de úteros macroscópicamente grávidos, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p < 0.270$ ).

Por otro lado, al administrar el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* (palta), en ratones hembras normales posiblemente se produzca una disrupción del balance estrógeno y progesterona con lo cual habría cambios en las características reproductivas de los animales de experimentación, debido a los metabolitos secundarios presentes en la planta (ver TABLA 1)<sup>11</sup>.

Se ha observado que a menor dosis de 25mg/kg se produce anticoncepción (ver figura 3), este efecto se estaría coadyuvando gracias a las saponinas, taninos y flavonoides presentes en el extracto. Las saponinas ayudan a una mayor producción de hormonas gestágenos como la progesterona, estas a grandes dosis bloquean la liberación de hormonas GnRh y por ende no se produciría liberación de hormonas gonadotrofinas y en consecuencia de ello no habría liberación de las hormonas FSH ni LH, fundamentales para la maduración de folículos y posterior liberación del óvulo<sup>44</sup>. Los flavonoides y taninos producen efectos antiimplantatorios en los animales<sup>25</sup>. Así como también los flavonoides y taninos actuarían a nivel uterino ya que como se concluyó en un estudio que evaluó el efecto anticonceptivo del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* probablemente el efecto se debió a una actividad estrogénicas y no estrogénicas de estos metabolitos a nivel uterino, presentes también en el extracto utilizado en esa investigación<sup>18</sup>.

Anteriormente se comentó que a mayor dosis el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* tendría efecto sobre el aumento en la fertilidad de ratones, ya que muy por el contrario se esperaba que a mayor dosis del extracto en estudio haya una mayor producción de hormonas gestágenos que producirían un mayor bloqueo de la GnRh y habría mayor efecto anticonceptivo que se vería reflejado en menor número de úteros grávidos, pero esto no se vio en la experiencia, ya que lo observado en la Figura 2 indicó un aumento en la frecuencia de preñez con la máxima dosis, la administración a 100mg/kg tuvo un 100% de grávidas; macroscópicamente en la laparotomía se observó que la evolución de la preñez también era mucho más marcada en este grupo. Las características antes mencionadas son similares a las observadas en un estudio experimental que evaluaba el aumento de la fertilidad en ratas<sup>45</sup>.

Se ha observado que al aumentar la dosis aumenta el número de úteros grávidos, esto posiblemente debido a que ha mayor concentración del extracto se estaría dando una mayor concentración de alcaloides, probablemente en cantidad suficiente para desplazar a los metabolitos secundarios saponinas, taninos y flavonoides. Cabe recalcar que estudios sobre los beneficios de la maca demostraron que los alcaloides naturales presentes en esta

planta actuaban sobre el hipotálamo, la hipófisis y las glándulas suprarrenales aumentando la libido, la energía y la vitalidad tanto en la hembra como el macho, al mejorar los niveles de testosterona, progesterona y la DHEA (la hormona de la juventud)<sup>46</sup>.

Es probable que a menor dosis del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* haya efecto anticonceptivo. Y que por el contrario según aumente la dosis posiblemente aumente la fertilidad en ratones, esto debido a las características observadas en esta investigación, se podría concluir que estaríamos frente a un fenómeno de hormesis, recomendadonse otros estudios para inferir mayores conclusiones y aportes científicos para la planta en estudio.

## VII. CONCLUSIONES

- Se ha demostrado que el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* al ser administrado en dosis bajas por vía oral presenta un pobre efecto anticonceptivo en ratones hembras Cepa BALB/c-53.
- En condiciones experimentales, el extracto etanólico de semilla de *Persea americana* a máxima dosis evidenció un efecto estimulante de la actividad reproductiva en ratones hembras.
- No se excluye definitivamente la capacidad de la semilla de *Persea americana* de tener efecto anticonceptivo puesto que ha sido aplicado en la especie *Mus musculus domesticus*, teniendo no necesariamente los mismos efectos en los humanos.
- Se obtuvo un efecto anticonceptivo con frecuencias de 3, 2 y 0 a dosis de 25, 50 y 100mg/Kg de peso, respectivamente. En el grupo control se obtuvo 1 útero con ausencia de preñez.
- Las saponinas y los alcaloides fueron los principales metabolitos encontrados en el extracto etanólico de semilla de *Persea americana*.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Elaborar futuras investigaciones para comprobar si el extracto de semilla de *Persea americana* tiene realmente efecto anticonceptivo a bajas dosis.
- Investigar más detalladamente el efecto fertilizante del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* a dosis altas.
- Realizar dosaje hormonal de FSH, LH, progesterona y estrógenos en ratones tratados con extracto etanólico de semilla de *Persea americana*.
- Realizar estudio histológico de los úteros de los ratones para comparar con exactitud el número de embriones y/o fetos del grupo control con el grupo experimental, así como también la implantación.
- Corroborar científicamente si los métodos anticonceptivos naturales usados en zonas rurales tienen realmente base científica para ser empleados como métodos de planificación familiar.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mejia, K., Rengifo, E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana (2da ed.). Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional, 2000; pp.147-148.
2. Molina, Y. Estudio etnobotánico y etnofarmacológico de plantas medicinales de Tambopata, Madre de Dios, Perú. *Revista Ciencia y Desarrollo*, 2005; 14(7): 7-24.
3. Instituto Nacional de Estadística e informática. Perú: Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2013. Nacional y Departamental. Lima. pp. 83-89
4. Salud Sexual y Reproductiva del Perú. Fondo de Poblaciones de las Naciones Unidas. Lima. 2013
5. Cabieses, F. Apuntes de la medicina tradicional (2ºda Ed.). Lima: A&B S. A. 1993; pp. 10-20.
6. Tapuy, A., Andy, J. *Elaboración de una guía de manejo de la medicina natural de plantas anticonceptivas existentes en el Cantón Arajuno, provincia de Pastaza-2011*. (Tesis de grado). 2012. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2493/1/26T00010.pdf> (Acceso 15 de noviembre 2013)
7. Teran, E., Cortez, J., Angelo, A., Cubillos, P., Carvajal, R. Evaluación de un efecto anticonceptivo de la *Persea americana* en un modelo experimental en ratas. *Biofarbo*, 2000; 8(8): 57-62.
8. Pahuja, M., Ortiz, A., Chamorro, G., Garduño, L. Estudio de las Propiedades de la Semilla de Aguacate (*Persea americana*) Variedad Hass, para el Aprovechamiento Integral del Fruto. *IX congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos*. Efectuado en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México. 2007.
9. Bardfod, A.; Kvist, L. Comparative ethnobotanical studies of the Amerindian groups in Coastal Ecuador. *The Royal Danish Academy of Sciences and Letters*. 1996; 46(1): 1-50.
10. Glenboski, L. Ethnobotany of the Tikuna Indians, Amazonas, Colombia. (1era ed.). Bogota D.E.: Universidad Nacional de Colombia, 1983; pp. 50-92.
11. Arukwe, U., Amadi, BA., Duru, MKC., Agomuo, EN., Adindu, E. Odika, PC., et al. Chemical composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed. *IJRRAS*, 2012; 11(2): 346-349.
12. Khaleequr, R., Arshiya, S., Shafeequr, R. *Gossypium herbaceum* Linn: An Ethnopharmacological Review. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 2012; 1(5): 1-5.

13. Bernal, J., Diaz, C., Tamayo, A., Córdoba, O., Londoño, M., Tamayo, P., et al. *Tecnología para el Cultivo del Aguacate* [Versión digital PDF] (1ºEd.). Colombia: CORPOICA, 2008; pp.11-23. Recuperado de <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/webbac/documentos/tecnologacultivoaguacate.pdf> (Acceso 15 de noviembre del 2013).
14. Bressani, R. *La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate*. Centro de Ciencia y Tecnología de Alimentos de La Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala. 2009. Recuperado de <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%202006.02.pdf> (Acceso de 20 de noviembre).
15. Santiago, P., Angeles, E., Alvarez, J., Gutiérrez, L., Jayos, E., Briceño, I., et al. *Perú: Informe nacional para la conferencia técnica internacional de la FAO sobre los recursos filogenéticos*. Conferencia Técnica Internacional de la FAO sobre los Recursos Fitogenéticos, Leipzig, Alemania. 1996.
16. García, J., Ramos, M., Mora, J. Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 1999; 5(1): 123-128.
17. Anderson, H., Cabrera, S., Lozano, R., Gonzales, L. Efecto del consumo de aguacate (*Persea americana* Mill) sobre el perfil lipídico en adultos con dislipidemia. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 2009; 22(2): 84-89.
18. Acaro, F. *Efecto anticonceptivo y post-coital del extracto etanólico del Desmodium molliculum (HBK). DC. "Manayupa" en ratas hembras cepa Holtzmann*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 2010. Recuperado de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/2599> (Acceso 10 de diciembre 2013)
19. Mikscicek, R. Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity. *Molecular Pharmacology*, 1993; 44(1): 37-43.
20. Sharangouda, P. Estrogenic activity of petroleum ether extract of seeds of *Citrus medica* on immature albino rats. *International Journal of Green Pharmacy*, 2008; 2(1): 91-94.
21. Osuna, L., Tapia, M., Aguilar, A. *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicanas para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fisicoquímico y farmacológico: Persea americana Miller (Lauraceae). "Aguacate"*. (1º Ed.). Barcelona: Edicions Universitat Barcelona, 2005; pp 99-102.
22. Okwuasaba, F., Osunkwo, U., Ekwenchi, M., Ekpenyong, K., Onwukeme, K., Olayinka, A., et al. Anticonceptive and estrogenic effects of a seed extract of *Ricinus communis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1991; 34(2-3): 141-145.
23. Goodman, L., Gilman, A. *Bases farmacológicas de la terapéutica*. (11º Ed.). México: McGraw-Hill Interamericana, 2006; pp 150-160.
24. Evans, W. C. *Pharmacognosy*. (15º Ed.). Londres: WB Saunders Company. 2001; pp 15.8-15.10

25. Hiremat, S., Badami, S., Hunasagatta, S., Patil, S. Antifertility and hormonal properties of flavones o *Striga oronbanchoidies*. *European Journal of Pharmacol*, 2000; 391(1-2): 193-197.
26. Carita, M. S. *Estudios preliminares hacia la estandarizacion para la valoracion hepatotóxica y nefrotóxica de extractos vegetales (Persea americana) en ratones*. Tesis para optar al título de licenciatura en bioquímica, Universidad Nacional de San Andrés. La Paz-Bolivia. 2005. Recuperado de <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/490/1/TN929.pdf> (Acceso de 28 de noviembre).
27. Rivest, R. W. Sexual maturation in female rats, hereditary, developmental and environmental aspects. *Experientia*, 1991; (10): 1026-1028.
28. Instituto Nacional de Salud-Perú. *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 2008.
29. Pinto, H. C. *O ciclo estral de rata e efeitos da castração e da terapia hormonal substitutiva*. 2007. Recuperado de <http://137.222.110.150/calnet/Ovarian/page2.htm> (Acceso 21 de noviembre del 2013).
30. Quezada, A. Introducción al manejo de animales de laboratorio: roedores y pequeñas especies. (1era ed.). México: Lib-UADY, 1997; pp. 70-74.
31. Méndez, N. *Prácticas Universitarias: Manejo de animales de laboratorio*. 2008. Recuperado de [http://apuntes de farmacologia-y-farmacia-clinica\\_1.html](http://apuntes de farmacologia-y-farmacia-clinica_1.html) (Acceso 10 de diciembre del 2013).
32. Hedrich, H. *The laboratory mouse*. (2ºEd.). Oxford, UK: Academic Press, 2012; pp 117-136.
33. Russell, F. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic Pathology*, 2008; 36(1): 375-384.
34. Rodriguez, J. Manual de clases prácticas de fisiología animal. (1era ed.). Llerida: Secretariado de Publicaciones, 1993; pp. 146-148.
35. Mandl, A. The phases of the estrous cycle in the adult white rat. *J Exp Biology*, 1951; 28(1): 576-584.
36. Tebar, M., Ruiz, A., Gaytan, F., Sanchez, J. Follicular and luteal progesterone play different roles synchronizing pituitary and ovarian events in the 4-day cyclic rat. *Biology of reproduction*, 1995; 53(5): 1183-1189.
37. Griffith, J., Farris, E. *The rat in laboratory investigation*. (2º Ed.). Oxford, England: Lippincott, 1992; pp 53-58.
38. Pallares, M. *Valoración no invasiva de la gestión y la embriogénesis en ratón mediante técnicas de imagen ultrasonográfica*. Tesis para optar al grado de doctor, Universidad Complutense de Madrid. Nacional. Madrid-España. 2009



Recuperado de <http://eprints.ucm.es/8401/1/T30741.pdf> (Acceso de 10 de noviembre).

39. Seguí, C. A. *Psiquiatría folklórica, shamanes y curanderos*. (1º Ed.). Perú: Ediciones Emanar, 1979; pp 403-410.
40. Benavides, V., D'Arrigo, G., Pino, J. Efectos del extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) en los embriones de ratón preimplantacional. *Revista Peruana de Biología*, 2010; 17(1): 381-384.
41. Samuelson, G., Kyermaten, G., Farah, M. Preliminary chemical characterization of pharmacologically active compounds in aqueous plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 1985; 14(2): 193-201.
42. Morton, D., Jennings, M., Buckwell, A., Ewbank, R., Godfrey, C., Holgate, B., et al. Refinando los procedimientos para la administración de sustancias. *Laboratory animals*, 2001; 35(1): 1-41
43. Vasquez, M. R. *Useful plants of Amazonian Peru*. (1º Ed.). USA: Filed with USDAS National Agricultural Library, 1990; pp 153-158.
44. Knobil, E., Neill's, J. *Physiology of Reproduction*. (3º Ed.) . New York: Raven, 2006; pp 383-450.
45. Arroyo, J., Barreda, A., Ráez, E., Jurado, B., Moral, G., Martínez, J., et al. El extracto etanólico de las flores de *Laccopetalum giganteum* (pacra-pacra) aumenta la fertilidad en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 2007; 68(3): 238 – 243.
46. Chacón, G. *Estudio Fitoquímico de Lepidium meyenii Walp*. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 1961
47. Álvarez, A., Cardona, W., Castro, J., Jiménez, S., Cadavid, A. Nuevas opciones en anticoncepción: posible uso espermicida de plantas colombianas. *Actas urológicas españolas*, 2007; 31(4): 372-381.
48. Hunter, M., Becerra, A. Estudio químico y aspectos farmacológicos de un anticonceptivo vegetal. *Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*, 1974; 2(4): 5-35.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1

	SUSTANCIA A ADMINISTRAR- DOSIS	PESO (g)	DOSIFICACIÓN (mL)
<b>CONTROL: Solución de GT 1% 10mL/kg</b>			
<b>A1 rojo</b>		37	0.37
<b>A1 azul</b>		37	0.37
<b>A1 verde</b>		35	0.35
<b>A1 negro</b>		35	0.35
<b>A1 negro 2 rayas</b>		36	0.36
<b>A2 rojo</b>		38	0.38
<b>A2 azul</b>		38	0.38
<b>A2 verde</b>		38	0.38
<b>A2 negro</b>		37	0.37
<b>A2 negro 2 rayas</b>		37	0.37

	SUSTANCIA A ADMINISTRAR- DOSIS	PESO (g)	DOSIFICACIÓN (mL)
<b>EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i>: 25mg/kg</b>			
<b>B1 rojo</b>		32	0.16
<b>B1 azul</b>		33	0.165
<b>B1 verde</b>		32	0.16
<b>B1 negro</b>		35	0.175
<b>B1 negro 2 rayas</b>		32	0.16
<b>B2 rojo</b>		31	0.155
<b>B2 azul</b>		34	0.17
<b>B2 verde</b>		35	0.175
<b>B2 negro</b>		35	0.175
<b>B2 negro 2 rayas</b>		37	0.185

	SUSTANCIA A ADMINISTRAR- DOSIS	PESO (g)	DOSIFICACIÓN (mL)
<b>EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i>: 50mg/kg</b>			
<b>C1 rojo</b>		31	0.155
<b>C1 azul</b>		37	0.185
<b>C1 verde</b>		27	0.135
<b>C1 negro</b>		34	0.170
<b>C1 negro 2 rayas</b>		35	0.175
<b>C2 rojo</b>		30	0.150
<b>C2 azul</b>		29	0.145
<b>C2 verde</b>		37	0.185
<b>C2 negro</b>		31	0.155
<b>C2 negro 2 rayas</b>		37	0.185

	SUSTANCIA A ADMINISTRAR- DOSIS	PESO (g)	DOSIFICACIÓN (mL)
<b>EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i>: 100mg/kg</b>			
D1 rojo		28	0.28
D1 azul		32	0.32
D1 verde		36	0.36
D1 negro		33	0.33
D1 negro 2 rayas		33	0.33
D2 rojo		32	0.32
D2 azul		30	0.30
D2 verde		37	0.37
D2 negro		38	0.38
D2 negro 2 rayas		33	0.33

## ANEXO 2

### Registro de Resultados Macroscópico de la actividad anticonceptiva:

*Indicador: preñez*

PREÑEZ	SI	NO
A1 rojo	X	
A1 azul	X	
A1 verde		X
A1 negro	X	
A1 negro 2 rayas	X	
A2 rojo	X	
A2 azul	X	
A2 verde	X	
A2 negro	X	
A2 negro 2 rayas	X	
B1 rojo	X	
B1 azul		X
B1 verde	X	
B1 negro		X
B1 negro 2 rayas	X	
B2 rojo	X	
B2 azul	X	
B2 verde		X
B2 negro	X	
B2 negro 2 rayas	X	
C1 rojo	X	
C1 azul	X	
C1 verde	X	
C1 negro	X	
C1 negro 2 rayas	X	

PREÑEZ	SI	NO
C2 rojo		X
C2 azul		X
C2 verde	X	
C2 negro	X	
C2 negro 2 rayas	X	
D1 rojo	X	
D1 azul	X	
D1 verde	X	
D1 negro	X	
D1 negro 2 rayas	X	
D2 rojo	X	
D2 azul	X	
D2 verde	X	
D2 negro	X	
D2 negro 2 rayas	X	

### **ANEXO 3**

#### **1.1. Registro de Resultados Macroscópico de la actividad anticonceptiva:**

Indicador: *preñez*

**GRUPO 1:**

<b>Fármaco: Solución de Goma de Tragacanto 1% 10ml/kg</b>			
<b>Preñez</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Total</b>
<b>Si</b>	9	0	9
<b>No</b>	0	1	1
<b>Total</b>	9	1	10

**GRUPO 2:**

<b>Fármaco: Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> 25mg/kg</b>			
<b>Preñez</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Total</b>
<b>Si</b>	7	0	7
<b>No</b>	0	3	3
<b>Total</b>	7	3	10

**GRUPO 3:**

<b>Fármaco: Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> 50mg/kg</b>			
<b>Preñez</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Total</b>
<b>Si</b>	8	0	8
<b>No</b>	0	2	2
<b>Total</b>	8	2	10

**GRUPO 4:**

<b>Fármaco: Extracto etanólico de semilla <i>Persea americana</i> 100mg/kg</b>			
<b>Preñez</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Total</b>
<b>Si</b>	10	0	10
<b>No</b>	0	0	0
<b>Total</b>	10	0	10

**ANEXO 4**

**CONSTANCIA DE INFOME DE HISTORIA  
NATURAL**





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

**CONSTANCIA N° 28-USM-2014**

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Planta completa), recibida de **José Antonio QUISPE YUCRA y Fiorella SUAZO PINEDO**, de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Persea americana* Miller**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: MAGNOLIIDAE**

**ORDEN: LAURALES**

**FAMILIA: LAURACEAE**

**GENERO: *Persea***

**ESPECIE: *Persea americana* Miller**

Nombre vulgar: "Palta.

Determinado por: Blgo. Mario Benavente.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 10 de febrero de 2014



**Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS**

Jefa del Herbario San Marcos (USM)

## ANEXO 5

### Tablas de contingencia (estadística de resultados)

**Resumen del procesamiento de los casos**

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
SUSTANCIA ADMINISTRADA * PREÑEZ MACROSCÓPICA	40	100,0%	0	,0%	40	100,0%

**Tabla de contingencia SUSTANCIA ADMINISTRADA \* PREÑEZ MACROSCÓPICA**

			PREÑEZ MACROSCÓPICA		Total
			si	no	
SUSTANCIA ADMINISTRADA	CONTROL	Recuento	9	1	10
		Frecuencia esperada	8,5	1,5	10,0
	EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i> A 25mg/Kg	Recuento	7	3	10
		Frecuencia esperada	8,5	1,5	10,0
	EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i> a 50mg/Kg	Recuento	8	2	10
		Frecuencia esperada	8,5	1,5	10,0
	EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i> A 100mg/Kg	Recuento	10	0	10
		Frecuencia esperada	8,5	1,5	10,0
	Total	Recuento	34	6	40
		Frecuencia esperada	34,0	6,0	40,0

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,922 <sup>a</sup>	3	,270
Razón de verosimilitudes	5,090	3	,165
Asociación lineal por lineal	,612	1	,434
N de casos válidos	40		

a. 4 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 1.50.

## ANEXO 6



**Figura 9: Proceso de elaboración del extracto de semilla de *Persea americana* (etapa 1)**



**Figura 10: Proceso de elaboración del extracto de semilla de *Persea americana* (etapa 2)**



**Figura 11: Proceso de elaboración del extracto de semilla de *Persea americana* (etapa 3)**



**Figura 12: Proceso de elaboración del extracto de semilla de *Persea americana* (etapa 4)**

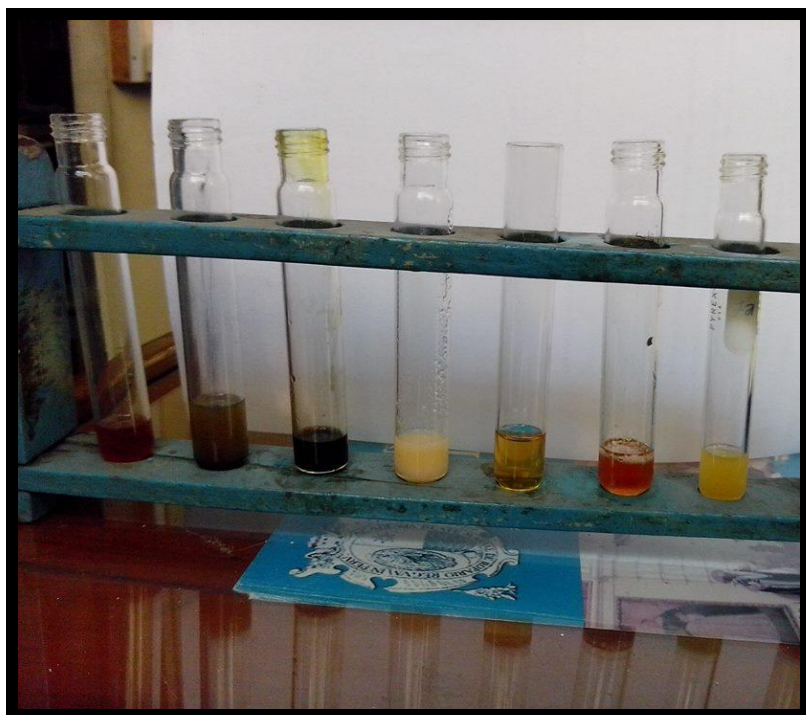




**Figura 13: Extracto etanólico de semilla de *Persea americana* 10mg/mL y control**



**Figura 14: Administración vía oral por cánula intragástrica**



**Figura 15: Tb 1 Molish, Tb 2 Antrona, Tb 3  $\text{FeCl}_3$ , Tb 4 Gelatina, Tb 5 Shinoda, Tb 6 Liebermann, Tb 7 Bortranger**



**Figura 16: Tb 1 Dragendorff, Tb 2 Mayer, Tb 3 Rosenheim, Tb 4 Hidroxilamina, Tb 5 Índice afrosimétrico**